

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平8-198754

(43) 公開日 平成8年(1996)8月6日

(51) Int.Cl.⁶

A 6 1 K 31/66

識別記号

AAM

庁内整理番号

F I

技術表示箇所

審査請求 未請求 請求項の数 5 F D (全 5 頁)

(21) 出願番号 特願平7-25822

(22) 出願日 平成7年(1995)1月23日

(71) 出願人 000006884

株式会社ヤクルト本社
東京都港区東新橋1丁目1番19号

(72) 発明者 酒井 正士

東京都港区東新橋1丁目1番19号 株式会
社ヤクルト本社内

(72) 発明者 工藤 聡

東京都港区東新橋1丁目1番19号 株式会
社ヤクルト本社内

(72) 発明者 大和矢 秀行

東京都港区東新橋1丁目1番19号 株式会
社ヤクルト本社内

(74) 代理人 弁理士 佐藤 正年 (外1名)

(54) 【発明の名称】 脳機能改善剤

(57) 【要約】

【目的】 本発明は、コスト面や供給面で問題がなく、
脳機能改善を行なうことのできる脳機能改善剤を得る。

【構成】 ウシ脳以外のホスファチジル-L-セリン又
はその塩を有効成分とするものである。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 ウシ以外の動物の脳由来のホスファチジル- γ -セリン又はその塩を有効成分とする脳機能改善剤。

【請求項2】 前記ウシ以外の動物が、豚、羊、鶏である請求項1に記載の脳機能改善剤。

【請求項3】 綿実由来のホスファチジル- γ -セリン又はその塩を有効成分とすることを特徴とする脳機能改善剤。

【請求項4】 酵母由来のホスファチジル- γ -セリン又はその塩を有効成分とする脳機能改善剤。 10

【請求項5】 鶏肉、鶏内臓、魚体、魚肉の何れか由来のホスファチジル- γ -セリン又はその塩を有効成分とする脳機能改善剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は例えば脳機能を改善させる組成物に関し、アルツハイマー病やパーキンソン病のような痴呆症の予防や治療に有効な組成物である脳機能改善剤に関するものである。

【0002】

【従来の技術】 ブルニ(A. Bruni)らはウシの脳から抽出したホスファチジルセリンをマウスの尾静脈に注射すると、脳内グルコース濃度が対照群の約4倍に上昇することを報告している(Nature, vol. 260, p. 331, 1976)。また、このウシの脳から抽出したホスファチジルセリンを12週間経口投与することによって、記憶力の低下を示した老齢ラットの行動を改善することが報告されている(A. Zanotti et al., Psychopharmacology Berl., vol. 99, p316, 1989)。

【0003】 更に、ヒトでの臨床試験でも、ウシ脳ホスファチジルセリンがアルツハイマー病や老年期の記憶障害に有効なことが二重盲検-プラセボ試験で報告されている(P. J. Delwaide et al., Acta Neurol. Scand., vol. 73, p. 136, 1986; R. R. Engel et al., Eur. Neuropsychopharmacol., vol. 2, p. 123, 1993)。

【0004】 このように脳内グルコース濃度の増加を示すウシ脳ホスファチジルセリンはラットやヒトの脳機能改善効果を示す。従って、脳内グルコース濃度の上昇は脳機能改善作用物質を選ぶ際の指標と考えられるが、一方では先程上げたブルニらの論文によれば大豆から抽出されたホスファチジルセリンには、このような作用はないと報告されており、脳機能の改善作用の発現にはホスファチジルセリン中の脂肪酸組成が重要と考えられている。

【0005】 即ち、ウシ脳から抽出されたホスファチジルセリンは、その構成脂肪酸鎖について、1位にステアリン酸鎖、2位にオレイン酸鎖が多いと言う極めて特異的な脂肪酸鎖の構成を有しており、この特異な構成脂肪酸鎖を有することが脳機能の改善作用の発現に必要な 50

と考えられていた。

【0006】 一方、最近、合成法で得られた特定の脂肪酸組成を有するホスファチジルセリンがプロテインキナーゼCアイソザイムの活性化作用に基づき、老人性痴呆症に対しての用途が期待できるとした特許出願が行われているが、インビボ(in vivo)で有効性を確認したものではない(特開平6-279311号公報)。

【0007】 一方、リゾ型のホスファチジルセリンについては、ウシ脳ホスファチジル- γ -セリンから誘導された、リゾホスファチジル- γ -セリンが、脳内或いは血中グルコース上昇作用を示すことが報告されている(H. W. Chang et al., Br. J. Pharmacol., vol. 93, p. 611, 1988)。

【0008】 このように、従来は、ウシ脳から抽出されたホスファチジルセリンがその特徴的な構成脂肪酸の組成に基づき、脳内グルコース上昇作用を示すと考えられていた。

【0009】

【発明が解決しようとする課題】 前述のように、従来の文献等では、ウシ脳から抽出されたホスファチジルセリン或いはそのリゾ型についてしか脳内グルコース上昇作用は知られていなかった。しかしながら、ウシ脳から抽出されたホスファチジルセリンはウシ1頭分の脳から約1gしか得られないので、コスト面でも、量的供給面でも大きな制限があることは明白である。

【0010】 本発明者らは、鋭意研究の結果、ウシ脳由来のホスファチジルセリン以外にも、ウシ以外の動物の脳由来、獣肉や魚肉由来、内臓由来、植物由来、或いは微生物由来のホスファチジル- γ -セリンにも脳機能改善効果(記憶障害回復効果)があることを見出し、ウシ脳以外に由来するホスファチジルセリンも抗痴呆物質として利用できることを明らかにして、本発明を完成した。

【0011】 即ち、本発明は、コスト面や供給面で問題がなく、脳機能改善を行なうことのできる脳機能改善剤を得ることを目的とする。

【0012】

【課題を解決するための手段】 本請求項1に記載された発明に係る脳機能改善剤では、ウシ以外の動物の脳由来のホスファチジル- γ -セリン又はその塩を有効成分とするものである。

【0013】 本請求項2に記載された発明に係る脳機能改善剤では、請求項1に記載されたウシ以外の動物が、豚、羊、鶏であるものである。

【0014】 本請求項3に記載された発明に係る脳機能改善剤では、綿実由来のホスファチジル- γ -セリン又はその塩を有効成分とするものである。

【0015】 本請求項4に記載された発明に係る脳機能改善剤では、酵母由来のホスファチジル- γ -セリン又はその塩を有効成分とするものである。

【0016】本請求項5に記載された発明に係る脳機能改善剤では、鶏肉、鶏内臓、魚体、魚肉の何れか由来のホスファチジル-L-セリン又はその塩を有効成分とするものである。

【0017】

【作用】本発明の脳機能改善剤では、ウシ以外の動物の脳由来のホスファチジル-L-セリン又はその塩を有効成分とするものであるため、脳内グルコース濃度を増加させることができる。従って、投与された被験体の脳機能を改善する効果を有する。また、具体的なウシ以外の動物としては、豚、羊、鶏等が上げられる。

【0018】また別の本発明の脳機能改善剤では、綿実由来のホスファチジル-L-セリン又はその塩を有効成分とするもの、酵母由来のホスファチジル-L-セリン又はその塩を有効成分とするもの、更に、鶏肉、鶏内臓、魚体、魚肉の何れか由来のホスファチジル-L-セリン又はその塩を有効成分とするものであるため、同じく、脳内グルコース濃度を増加させることができる。従って、投与された被験体の脳機能を改善する効果を有する。

【0019】具体的には、鶏内臓としては、鶏肝臓が上げられる。また、魚体、魚肉としては、イワシ、マグロ、サバ等の魚体、魚肉、血合肉、また、魚油の絞り粕、魚の内臓、魚の内臓から肝油を絞った残渣等が上げられる。

【0020】以上のように、本発明に係る脳機能改善剤では、ウシ以外の動物の脳由来、獣肉や魚体、魚肉由来、内臓由来、植物由来、或いは微生物由来のホスファチジル-L-セリン又はその塩を有効成分とするものである。このウシ脳以外のホスファチジル-L-セリンは、後述する脂肪酸鎖の組成を有しており、脂肪酸鎖の組成と脳機能改善効果（脳内グルコース濃度の上昇効果）との関係は必ずしも明確でないが、少なくとも、後述する実施例で効果を確認した範囲では、有効であることが認められた。

【0021】また、本発明のウシ脳以外のホスファチジル-L-セリンの塩は、薬学上許容し得る塩の形で用いればよい。具体的には、ナトリウム塩、カリウム塩、マグネシウム塩、アンモニウム塩、リン酸塩、塩酸塩、硫酸塩等があるが、ナトリウム塩、カリウム塩が好ましい。

【0022】更に、本発明のウシ脳以外のホスファチジル-L-セリン又はその塩の投与は、静脈内投与でも経口投与でも有効である。また、他の脂質、糖、タンパク質等の賦形剤を混ぜて、扱い易さや保存性を向上させたカプセル状や顆粒剤に加工しても良い。更に、安全性の点でも問題がないので、日常摂取する飲食品中に配合し、脳機能障害の軽減や予防に使用することもできる。

【0023】本発明に係るウシ脳以外のホスファチジル-L-セリン又はその塩は、原料となる各種動物組織

や、綿実レシチン、酵母等から常法の有機溶媒を用いた精製操作によって、ホスファチジル-L-セリンを製造することができる。原料として用いる各種動物組織や、綿実レシチン、酵母等については、何れもウシ脳に比べてはるかに大量にまた安価に提供可能であり、また供給面での量的問題も少ない。

【0024】また、用いる各種動物組織や、綿実レシチン、酵母由来のホスファチジル-L-セリンは適当な精製処理工程に付し、不純物を除いて用いることが望ましいが、投与上の問題や効果を阻害するような問題がない限り、原料由来や生成工程での不純物を含んだまま用いても良い。

【0025】

【実施例】

実施例1. 動物組織からのホスファチジル-L-セリンの精製

動物組織からのホスファチジル-L-セリンの精製は、「新生物化学実験講座4 脂質II リン脂質（東京化学同人、1991）8.3 ホスファチジルセリン（新井洋由）」を参考に行った。動物組織（ブタ脳、ヒツジ脳、鶏肉、鶏肝臓、イワシ魚体、サバ血合肉）を細かく切断し、200g当り、60mlのアセトンを加え、ワーリングブレンダーでホモジナイズした。これにアセトン 200mlを加え、上清を吸引濾過して除いた残渣を800mlのアセトン、400mlのエタノールで洗浄後、800mlの石油エーテルで一晩攪拌しながら脂質を抽出した。抽出物を減圧乾固して、10mlのエチルエーテルに溶解し、ここに100mlのエチルアルコールを徐々に加え、吸引濾過により沈殿を回収した。回収した沈殿物を減圧乾固し、そのうちの5gに対してクロロホルムを加えて溶解したものをシリカゲル（Silica gel 60, MERCK社製）を充填したカラム（φ32mm×300mm）にホスファチジル-L-セリンを含む画分を分取した。シリカゲル薄層クロマトグラフィーにより分析した結果、各精製品のホスファチジル-L-セリン含量は90%以上であった。

【0026】実施例2. 綿実レシチンからのホスファチジル-L-セリンの精製

綿実からのホスファチジル-L-セリンの精製も、「新生物化学実験講座4 脂質II リン脂質（東京化学同人、1991）8.3 ホスファチジルセリン（新井洋由）」を参考に行った。綿実レシチン5gに対してクロロホルムを加えて溶解したものをシリカゲル（Silica gel 60, MERCK社製）を充填したカラム（φ32mm×300mm）を用いて精製してホスファチジル-L-セリンを含む画分を分取した。シリカゲル薄層クロマトグラフィーにより分析した結果、各精製品のホスファチジル-L-セリン含量は90%以上であった。

【0027】実施例3. 各種ホスファチジル-L-セリンの脂肪酸鎖の組成

実施例1, 2で得られた各種ホスファチジル-L-セリ

ンの脂肪酸鎖の組成の分析を行った。具体的には、「生物化学実験法9 脂質分析法入門(藤野康彦著、学会出版センター)」に従って、メチルエステル化した試料をキャピラリーGLCにより分析した。結果を以下の表1に示す。尚、表中、「PS」はホスファチジル-L-セリン*

ンを、「16:0」はパルミチン酸、「18:0」はステアリン酸、「18:1」はオレイン酸、「18:2」はリノール酸、「20:4」はアラキドン酸を示す。

【0028】

【表1】

	16:0	18:0	18:1	18:2	20:4	その他
ウシ脳PS	1.5	49.9	30.4	-	1.2	17.0
ブタ脳PS	1.2	48.1	32.5	-	1.5	16.7
ヒツジ脳PS	1.8	47.1	30.5	-	1.7	18.9
鶏肉PS	13.8	3.9	10.2	63.2	5.9	3.0
鶏肝臓PS	35.9	8.8	7.5	40.0	3.1	4.7
イワシ魚体PS	20.3	2.1	15.3	2.5	2.2	57.6
サバ血合肉PS	18.6	5.6	3.2	1.1	3.0	63.5
綿実PS	32.3	0.5	14.2	50.6	-	2.2
酵母PS (S.cerevisiae)	42.5	3.4	35.7	-	-	18.4

【0029】表1に示すように、ウシ脳から抽出されたホスファチジル-L-セリンの脂肪酸はステアリン酸とオレイン酸とが大半を占める。これに対して、ブタ脳及びヒツジ脳由来のホスファチジル-L-セリンの脂肪酸も同様な構成であり、このステアリン酸とオレイン酸とが大半を占める構成は、動物の脳自体に特有の脂肪酸の構成であることが推測された。

【0030】ところが、鶏肉、鶏肝臓、サバ血合肉、綿実酵母由来のホスファチジル-L-セリンの脂肪酸は、ウシ脳及び他の動物脳由来及び酵母由来のホスファチジル-L-セリンの脂肪酸の構成とはかなり異なることが判った。

【0031】鶏肉及び鶏肝臓由来のホスファチジル-L-セリンの脂肪酸では、リノール酸が多く、サバ血合肉由来のホスファチジル-L-セリンの脂肪酸では、パルミチン酸、ステアリン酸、オレイン酸、リノール酸、アラキドン酸以外の脂肪酸が大半を占める。また、綿実由来のホスファチジル-L-セリンの脂肪酸は鶏肝臓由来のものと同様に、リノール酸とパルミチン酸とが大半を占

める。更に、酵母由来のホスファチジル-L-セリンの脂肪酸は、パルミチン酸とオレイン酸とが大半を占める。

20 【0032】実施例4. スコポラミン誘発記憶障害の改善

各群10頭の雄性ラット(SD系、体重約300g)にスコポラミン溶液(3.0mg/ml 緩衝液)及び各種PS溶液(60mg/ml 緩衝液)をそれぞれ1.0ml/kg ずつ腹腔内に投与し、投与20分後にラット用ステップスルー・ケージ(室町機械(株))の明室におき、約10秒後に明室と暗室とを仕切るドアを開けてラットが暗室に入った直後に2秒間の電気刺激(4mA, 100V, 直流)を与えた。そして、投与後24時間後に再びラットを明室におき、四肢が暗室に入るまでの時間(反応潜時)を最大5分間まで計測した。この反応潜時が長いほど、電気刺激を受けた経験を良く記憶していると判断される。

【0033】

【表2】

	暗室への移行率*	反応潜時の中央値
対照 (緩衝液投与)	0/10 ^a	300秒以上
スコポリミン (Sc) 単独	9/10 ^b	128秒
Sc+ウシ脳PS	0/10 ^a	300秒以上
Sc+ブタ脳PS	0/10 ^a	300秒以上
Sc+ヒツジ脳PS	0/10 ^a	300秒以上
Sc+鶏肉PS	0/10 ^a	300秒以上
Sc+鶏肝臓PS	0/10 ^a	300秒以上
Sc+イワシ魚肉PS	0/10 ^a	300秒以上
Sc+サバ血合肉PS	0/10 ^a	300秒以上
Sc+綿実PS	0/10 ^a	300秒以上
Sc+酵母PS (<i>S. cerevisiae</i>)	0/10 ^a	300秒以上
Sc+合成PS (Dioleoyl)	0/10 ^a	300秒以上
Sc+合成PS (Dipalmitoil)	0/10 ^a	300秒以上

* : 5分以内に暗室に移行した動物数/全動物数

a vs b : $p < 0.01$ (マン・ホイットニーのU検定)

A vs B : $p < 0.01$ (ノンパラメトリック多重比較)

【0034】表2に示すように、対象群 (緩衝液を投与) では、全ての個体の反応潜時は、5分以上であったのに対し、スコポリミン単独投与群では10頭中9頭の個体が5分以内に暗室に入り、記憶障害の誘発が確認された。一方、スコポリミンとPSとを両方投与したものでは全ての個体が暗室に留まっており、ウシ脳以外から抽出したPSもウシ脳PSと同様に抗痴呆効果 (スコポリミン誘発記憶障害の改善効果) を持つことが確認された。尚、同様の抗痴呆効果はこれらのPSのリゾ体でも確認された。

【0035】以上のように、ウシ脳から抽出されたホスファチジル-L-セリン以外でも、脳機能改善効果があるとの本発明の知見により、

(1) 脳機能改善に有効なホスファチジル-L-セリンを経口で摂取できるため、苦痛なく容易に連続摂取が可能となった。

(2) 安価に入手できる原料材料から脳機能改善に有効なホスファチジル-L-セリンを安価に、大量に製造できるようになった。

【0036】

【発明の効果】本発明は以上説明したとおり、ウシ以外の動物の脳由来のホスファチジル-L-セリン又はその塩を有効成分とするものであるため、脳内グルコース濃度を増加させることができる。従って、投与された被験体の脳機能を改善する効果を有する。また、具体的なウシ以外の動物としては、豚、羊、鶏等が上げられる。

【0037】また別の本発明の脳機能改善剤では、綿実由来のホスファチジル-L-セリン又はその塩を有効成分とするもの、酵母由来のホスファチジル-L-セリン又はその塩を有効成分とするもの、更に、鶏肉、鶏内臓、魚体、魚肉の何れか由来のホスファチジル-L-セリン又はその塩を有効成分とするものであるため、同じく、脳内グルコース濃度を増加させることができる。従って、投与された被験体の脳機能を改善する効果を有する。

【0038】以上のように、本発明に係る脳機能改善剤では、ウシ脳以外のホスファチジル-L-セリンは、何れもウシ脳に比べてはるかに大量にまた安価に提供可能であり、また供給面での量的問題も少ない。

EUROPEAN PATENT OFFICE

Pat nt Abstracts of Japan

PUBLICATION NUMBER : 08198754
PUBLICATION DATE : 06-08-96

APPLICATION DATE : 23-01-95
APPLICATION NUMBER : 07025822

APPLICANT : YAKULT HONSHA CO LTD;

INVENTOR : OWAYA HIDEYUKI;

INT.CL. : A61K 31/66

TITLE : AGENT FOR IMPROVING CEREBRAL FUNCTION

ABSTRACT : PURPOSE: To obtain a cerebral function improving agent containing phosphatidyl-L-serine originated from the brain of an animal except a cattle, capable of being massively produced at a low cost, without a problem on the aspects of the cost and supply, and capable of improving the cerebral functions.

CONSTITUTION: This improving agent contains phosphatidyl-L-serine originated from the brain of an animal (e.g. pig, sheep, chicken) except cattle or its salt as an active ingredient. The salt of the phosphatidyl-L-serine is preferably Na salt or K salt. The phosphatidyl-L-serine is obtained e.g. by extracting a swine brain or an ovine brain with acetone, filtering the filtrate, extracting the residue with petroleum ether, vacuum-drying the extract, dissolving the dried product in ethyl ether, adding ethyl alcohol to the solution to produce precipitates, dissolving the precipitates in chloroform, and subsequently purifying the solution with silica gel column chromatography.

COPYRIGHT: (C) JPO

